

グルタチオンの腸管吸収

—食品成分の非栄養的機能に関連して—

中 川 一 夫

Intestinal absorption of glutathione, relating to the
bio-availability of non-nutrients in foods

Kazuo NAKAGAWA

I. はじめに

グルタチオン (γ -glutamyl-cysteinyl-glycine, GSH) は、動物だけでなく植物や細菌にも含有され、細胞内非蛋白性チオールの大部分を占めている。細胞内に豊富に存在するグルタチオンの生理的役割は実に多彩であるが¹⁻⁴⁾、動物組織における細胞内酸化還元状態の制御やグルタチオン S-トランスフェラーゼの媒介による体外異物の解毒代謝への関与は、毒性学的な観点からみて重要な機能と考えられる。植物においても除草剤などの農薬代謝にその役割の一端を求める研究がある^{5,6)}。

表1には、野菜類などの植物中のグルタチオン含有量を示した⁷⁻⁹⁾。動物組織にくらべると低いが、比較的高濃度にグルタチオンを含む食品があることがわかる。しかし食品に含まれるグルタチオンが、人体内で作動しているグルタチオン関連機能に直接組入れられている保証はない。従って体内外の接点となる腸管吸収を検討することは、食品中グルタチオン存在意義あるいは機能を考える上で重要と思われ、これに関する論文を紹介する。

II. ペプチドの腸管吸収

グルタチオン (以下, GSH と略す。) の腸管吸収について述べる前に、一般的なジ-またはトリ-ペプチドの腸管吸収を概観しておく。

食品中の蛋白質は消化液中の加水分解酵素の働きで順次小さなペプチドやアミノ酸に分解されていくが、

表1 植物性食品中のグルタチオン含量

種 類	含 有 量
ホウレンソウ	0.51 mmol/kg
キ ャ ベ ツ	0.47 mmol/kg
シ ロ ナ	0.30 mmol/kg
カ ブ	0.21 mmol/kg
パ セ リ	0.30 mmol/kg
ナ ス	0.27 mmol/kg
カ ボ チ ャ	0.40 mmol/kg
ト マ ト	0.94 mmol/kg
ク レ ソ ン	0.22 mmol/kg
カリフラワー	0.20 mmol/kg
空 豆	0.31 mmol/kg
サヤエンドウ	0.30 mmol/kg
エ ン ド ウ	>0.2 mM
枝 豆	0.28 mmol/kg
エ ノ キ タ ケ	0.43 mmol/kg
シ メ ジ	0.25 mmol/kg
小麦 (胚 芽)	>0.2 mM
小 麦 粉	8.0, 9.6 mg%

文献 7~9) より引用。

最終的にどのような機構で体内へ輸送されていくか不明の点も多い。小腸絨毛の吸収上皮細胞の腸管腔側にはいくつかのアミノ酸輸送系があり、腸管内にあるアミノ酸は、これらの輸送系で体内に運び込まれることには疑いはない。しかし、ジペプチドやトリペプチドなどのオリゴペプチド (以下, ペプチドと記す。) の腸管吸収とアミノ酸輸送系との関係は必ずしも明確ではない。ペプチドの腸管吸収および加水分解に関しては、およそ2つの考え方にまとめられる¹⁰⁾。

1つの考え方は Newey & Smyth^{11,12)} により基礎的な概念が出され Matthews¹³⁾ らにより確立された細胞内消化説である。その骨子は、管腔内のペプチドは粘膜上皮細胞の管腔側形質膜である刷子縁膜に存在する特異的なペプチド輸送系により細胞内に取込まれた後、細胞内のペプチダーゼによりアミノ酸に加水分解されるというものである。この時起こるペプチド吸収は、 Na^+ 依存性、エネルギー依存性であり、ペプチドの濃度勾配に逆らって輸送できる能動輸送形式をとる。このペプチド輸送系の駆動力は、刷子縁膜の内側に向う H^+ 勾配であることが明らかとなっている¹⁴⁾。

もう1つの仮説は Ugolev¹⁵⁾ の膜消化説に代表される考え方で、ペプチドは刷子縁膜表面に依存するペプチダーゼにより加水分解され、微絨毛間隙に放出されたアミノ酸は、このペプチダーゼに近接した、ペプチダーゼとは異なる蛋白分子で構成されたアミノ酸輸送系により細胞内に取込まれるというものである。

ペプチド構造の違いにより吸収機構も異なると考えられ、どちらが本質的なものは未だ解明されていない。しかし前者の細胞内消化説は次に述べるいくつかの実験結果を説明するのに都合が良く、妥当性が高いと考えられている。すなわち、ペプチダーゼ活性の分布をみると刷子縁膜よりも細胞内可溶性分画に活性が高いこと；プロリン残基を含むペプチドは刷子縁膜のペプチダーゼにより加水分解をうけないものにもかかわらず細胞内に良く吸収されること；ペプチドが吸収されるとき、そのペプチドを構成しているアミノ酸相互に吸収阻害が起こらないこと；さらには、同じアミノ酸組成をもつペプチドとアミノ酸混合物の吸収速度を比較すると、ペプチドとして与えられたアミノ酸の方が速く吸収されることなどである。また、このペプチド吸収は、ペプチドの濃度が高い場合には濃度に比例しない飽和現象を示すことから担体輸送形式と考えられ、ペプチド相互間に吸収における拮抗阻害が起こることもうまく説明することができる。

もっとも、ペプチドの刷子縁膜透過を伴う細胞内消化が唯一のペプチド吸収機構ではなく、アミノ酸まで加水分解されて吸収されるペプチドもあると考えられている。さらに、アミノ酸輸送系に数種類の輸送担体が存在すると同様に、ペプチド構造の違いに対応する複数のペプチド輸送担体の存在を否定する証拠もない。いずれにしてもペプチドは、最終的にはアミノ酸として血流中に入っていく。

III. グルタチオンの腸管吸収機構

トリペプチドである GSH も上に述べたペプチド吸

収機構により吸収されるのであろうか。一般的なペプチドの吸収機構に関する報告の数に比べて、GSH の吸収を主題とする報告は極めて少ない。時系列的に拾い上げると、Linder ら¹⁶⁾ のブタ小腸刷子縁膜を用いた放射性 GSH 取込み実験、Hunjan & Evered¹⁷⁾ によるヒトの口腔粘膜からの *in vivo* 吸収実験並びにラット反転小腸を用いた *in vitro* 吸収実験、および Hagen & Jones¹⁸⁾ の封管型ラット腸管ループを用いた *in situ* での腸間膜静脈還流実験の成績である。

GSH 吸収機構と他のペプチド吸収機構との異同を知るためには、GSH が加水分解されずに無変化のまま小腸粘膜を透過できるかどうか、透過できるとすれば GSH 輸送はどのような形式で行われているのか、GSH 輸送系の吸収上皮細胞での局在性はどうかなどが明らかにされねばならない。特異的な GSH 輸送系があるとすれば、GSH の化学構造や細胞内外で起こる GSH 代謝の特徴も大きく関与するものと思われる。

1) GSH の化学構造と代謝系

GSH のペプチドとしての化学構造の特徴は、 γ -グルタミル基をもつことである。この為 GSH の分解はアミノペプチダーゼの加水分解作用を受け難く、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT) が唯一最初の分解酵素となる。GGT の水解作用でグルタミン酸がはずれたシステイニルグリシンは、システイニルグリシンジペプチダーゼやアミノペプチダーゼによる加水分解をうける。ところが GGT は小腸上皮細胞刷子縁膜の管腔側表面に局在することが判明し、これは他の腎や肝の上皮細胞での GGT の局在性と一致している。システイニルグリシンジペプチダーゼも細胞外面に局在することから、GSH の分解は細胞外でしか起り得ないと考えられている。一方、アミノ酸からの GSH 生合成はすべて細胞内で進行する。合成系の律速酵素は、 γ -グルタミルシステインシンテターゼであるが、細胞内のシステイン濃度が低いのでシステインが実質的な律速因子となっている。このような代謝系の特徴を考えると、GSH が細胞内に高濃度に存在することがよく理解できる。

2) GSH は無変化の形で輸送されるか

腸管内の GSH が血流中に入るためには、まず粘膜上皮細胞の刷子縁膜を透過して細胞内に入った後、血管側形質膜 (側底膜) を透過する必要がある。細胞下で輸送機構を検索するために、刷子縁膜から得られる膜小胞がよく用いられるが、他の膜系の混入に気をつけなければならない。Linder ら¹⁶⁾ の用いた刷子縁膜小胞は、高い GGT 活性やアミノペプチダーゼ活性を

示すが、側底膜に局在する Na^+ , K^+ -ATPase 活性は低いので側底膜の混入は少ないと考えられる。この膜小胞と $[\text{S}^{35}]\text{GSH}$ 0.1mM をインキュベートした場合、膜小胞から検出される放射活性は、30秒後では50%が GSH, 20%が GSSG として回収され、20分後では23%が GSH, 21%が GSSG として回収された。浸透圧を高くして膜小胞内容積を減少させると、回収される放射活性も減少することから、上の数字は膜に吸着された放射活性をあらわすものではなく、膜小胞内に取込まれたものであると解釈された。すなわち GSH は GGT により加水分解されることなく刷子縁膜を透過できることになる。

Hunjan & Evered の反転小腸を用いた実験¹⁷⁾ では、GSH は代謝されることなく漿膜側にあらわれ、この GSH 輸送は Gly-Gly-Gly, Gly-Gly または Gly-Leu などグリシンをもつペプチドにより阻害されると報告されている。ただし、Hagen & Jones¹⁸⁾ が指摘するように、この実験では GSH は Ellman 試薬により定量されているので SH 化合物を詳細に識別することは困難であり、測定された SH 基が GSH であるのか加水分解産物である Cys-Gly や Cys であるのか明確でない。GSH が無変化のままで輸送されたか疑問なしとはしない。また、使用された腸管標本は上皮細胞以外の粘膜下組織や筋層を含むので、最初管腔側に添加した GSH と漿膜側にあらわれた GSH が同じものか確実性に欠ける。

これら2つの実験にくらべてより生理的状态に近い条件で行われた Hagen & Jones の腸間膜還流実験の成績¹⁸⁾ も GSH が代謝されずに腸管粘膜を透過する事を示唆する。 $[\text{H}^3]\text{GSH}$ を腸管ループに注入し、静脈還流液中にあらわれる放射活性を HPLC で分析すると70~80%が GSH であった。GSH 分解酵素阻害剤であるアシピチンや GSH 合成酵素阻害剤であるブチオニンスルホキシミンを用いた還流実験でもこの結果が再現されたので、還流液中の $[\text{H}^3]\text{GSH}$ は GGT による分解を受けずに吸収されたものであり、また、細胞内で再合成されたものでもない。さらに彼らは胃ゾンデで 90 μmol の GSH を投与すると、血漿中 GSH は90分後に約3倍に増加することを観察した。

以上3つの論文の結果はいずれも、GSH が無変化で腸管粘膜から吸収されることを示唆するものであるが、刷子縁膜上で GSH が如何にして GGT による加水分解をまねがれることができるかは不明である。

一方、井上¹⁹⁾ はウサギ小腸上皮刷子縁膜上には、

GSH を細胞から腸管腔内に分泌する輸送系があり、管腔内に出た GSH は GGT により加水分解された後、アミノ酸として再吸収されると述べている。刷子縁膜上に複数の GSH 輸送系があるのか、それとも1つの輸送系が双方向に働くのか、次の GSH 輸送形式とともに今後検討されなければならない。

3) GSH 輸送の形式

Hagen & Jones¹⁸⁾ は、小腸粘膜での GSH 輸送が GSH 濃度に比例する単純拡散と飽和現象のみられる担体輸送の両方の形式で行われることを示す結果を得ている。この場合 1mMGSH 以下の低濃度ではほとんど担体輸送形式で取込まれる。この担体輸送は Na^+ 依存性であるが、管腔側だけを Na^+ 無添加にした場合には GSH 輸送は抑制され、静脈還流液だけを Na^+ 無添加にすると輸送は促進された。側底膜に存在する Na^+ , K^+ -ATPase と刷子縁膜にある GSH 輸送系との関連は不明である。同じ研究グループ²⁰⁾ は、側底膜小胞には血漿側から粘膜細胞内側へ向う Na^+ と GSH の共輸送系が存在することをみているので、粘膜上皮細胞には、刷子縁膜と側底膜の両極において性質の異なる複数の GSH 輸送系が存在するのかもしれない。

有機陰イオン輸送阻害剤であるプロベネシドを用いても、粘膜細胞の両極で GSH 輸送の性質が異なる結果を得ている¹⁸⁾。すなわち、プロベネシドは、管腔側に添加した場合には GSH 輸送には影響しないが、側底側に添加した場合には GSH 輸送を阻害した。

Linder らの刷子縁膜小胞でも Na^+ 依存性で GSH 濃度勾配に送らった取込みが起っており Hagen & Jones の成績と矛盾しない。Hunjan & Evered¹⁷⁾ の反転小腸での GSH 輸送形式は、 Na^+ 非依存性でエネルギー非要求性の担体関与の促進拡散である。この違いは、既に述べた様に反転腸管では粘膜以外の筋層などの組織の通過も見ている事や、比較的高濃度の GSH が用いられた事などによるのかもしれない。

以上のように、小腸粘膜上皮細胞には細胞膜上の局在性や GSH 輸送の方向性において異なる輸送系が報告されている段階で統一された吸収機構はまだ無いが、仮想的な GSH 輸送を模式図として示した(図1)。GSH に特異的な分解酵素である GGT は細胞膜外側にだけ存在するので、GSH が何らかの機作で GGT の加水分解作用をすり抜けて細胞内に透過することができれば、粘膜細胞内に分解酵素が無いことが却って利となって、無変化で静脈中に入ることが可能となる。GGT と GSH 輸送系の刷子縁膜上での局在性の解明

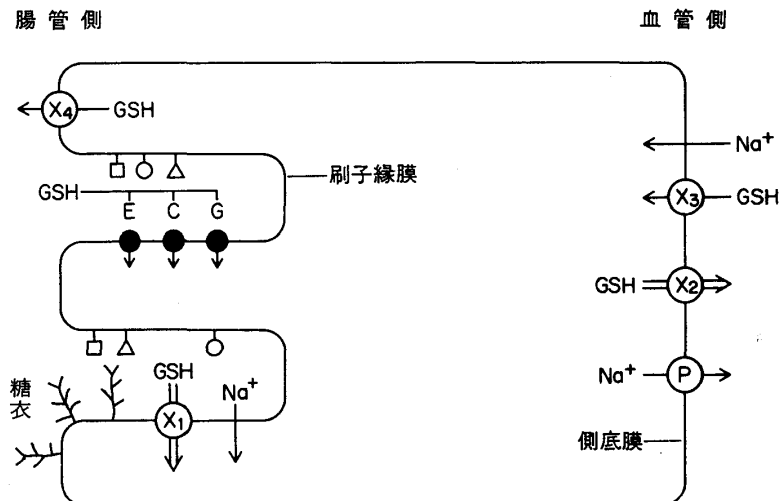


図1 小腸粘膜上皮細胞の仮想的な GSH 輸送系

□, γ-グルタミルトランスぺプチダーゼ; ○, アミノペプチダーゼ; △, ジペプチダーゼ; X_n, GSH 輸送担体; ●, アミノ酸輸送担体; P, Na⁺, K⁺-ATPase; E, グルタミン酸; C, システイン; G, グリシン

表2 人の生理的機能に関連する食品の機能

機能の種類	働 き
I. 栄養機能	生命維持, 健康保持。
II. 感覚刺激機能	味覚や臭覚などを刺激する; 人の摂食行動につながり, 栄養機能の補助機能ともいえる。また生体防御機能にも関連する。
III. 生命活動調整機能	①神経やホルモンによっておこなわれる生体制御機能の修飾。 ②免疫や異物代謝など生体防御機能の賦活。 ③高血圧や糖尿病などの疾病の予防と治療補助。 ④老化の制御。 ⑤腸内細菌叢の制御。

が必要である。

IV. 食品中 GSH の機能

食品を摂取したことによって生体側にあらわれる効果を食品の機能として位置づけると、食品には生命維持に直接関係する栄養機能以外にも、様々な機能が存在すると言われている（表2）。特に第3の機能—生命活動の調整機能が、人の健康保持にとって重要な役割を果たすとみられ²¹⁾、この機能を備えた新しい形態の食品の開発も意図されている²²⁾。

ところで、食品中 GSH は生体機能に関わってどのような存在意義があるのだろうか。アミノ酸、特にシステインの供給源としての栄養的機能以外の役割について検討してみたい。GSH が無変化で小腸絨毛か

ら吸収されるか否かで評価は違ってくるが、次の例は毒性学的な立場から見て興味ある研究である。

Lash ら²⁰⁾ は、ラット小腸粘膜上皮細胞を用いて、酸化ストレスに対する GSH の防御効果を検討している。小腸から調製した上皮細胞浮遊液を t-butyl hydroperoxide とともにインキュベートすると細胞の生存率は低下するが、GSH を先に添加しておくと生存率の低下は著しく改善された。この効果は 20μM GSH という低濃度でも有効であった。しかし、GSH 構成アミノ酸のグルタミン酸、システイン、グリシンを添加した場合には防御効果は認められなかった。また、有機アニオン輸送阻害剤のプロベネシドの共存下では、GSH の防御効果が失われたことから、GSH の酸化ストレスに対する防御効果は、GSH が無変化で上皮細胞内に取込まれて発揮されるものと思われる。この結果は、過酸化脂質など酸化ストレスを引き起こす化学物質の侵入に対して、経口的に摂取された GSH が防御物質として作動することを期待させる。

Lash らは、また、腎尿細管の側底膜でも GSH が無変化の形で取込まれる実験結果に基づいて、血流中に入った GSH は腎においても小腸粘膜におけると同様の抗酸化ストレス作用が期待できるとしている。

腸内細菌叢は栄養学や毒性学の立場からみて重要な細胞群であり^{23,24)}、ビタミン類の合成や体外異物の解毒代謝あるいは逆に発癌作用に関与していると考えられている。Owens & Hartman²⁵⁾ はサルモネラ属の細菌や大腸菌を用いて、外来の有害物質に対する腸内

細菌の解毒能に GSH が関与することを報告している。すなわち、強い発癌物質である N-methyl-N'-nitro-N'-nitrosoguanidine による細菌の生育抑制や変異原性が低濃度の GSH 添加により抑制されることや、水銀あるいはカドミウムなどによる生育抑制も μM オーダーの GSH で改善されたことが述べられている。腸内細菌叢のもつもう1つの臓器としての役割について今後解明が進めば、外来異物の腸内細菌叢への影響が宿主である人にどのような効果としてあらわれるか、より詳細に理解されるであろう。

消化管は経口的に摂取された外来異物に最初に暴露される臓器であるので、このような GSH の毒性軽減作用は、外来異物の解毒に役立つ可能性がある。しかし食品中 GSH の有効性を結論するにはなお多くの例証を積み重ねる必要がある。GSH の関与する生体機能は細部にわたって理解されつつあるし、医薬品としての GSH の使用経験も多い。そのような物質であっても食品中の存在意義となるとその理解に至る路程は長い。

V. おわりに

生物は長い進化の過程で、自己に都合の良い物質を効率よく体内に取込む機構を獲得して来た。細胞内でグルタチオン1分子をアミノ酸から合成するためには2分子の ATP を必要とするので、腸管からグルタチオンを無変化の形で取込むことは益があるように思われる。しかし体内臓器でもっともグルタチオン濃度の高い肝臓では、グルタチオンは無変化のままでは取込まれない。腸-肝の連関を考えると、アミノ酸に水解されて吸収されても結局ムダはないという収支決算になるのであろうか。腸管内には食品由来のグルタチオン以外に、胆汁とともに分泌されるグルタチオンがあらわれる。それらの再利用という観点からもグルタチオンの腸管吸収は小さくない意味を持つと考えられ、今後の研究の進展が期待される。

文 献

- 1) Meister, A. & Anderson, M. E., *Ann. Rev. Biochem.* **52**, 711, 1983
- 2) Larsson, A. et al. (eds.), *Functions of Glutathione*, Raven Press, New York, 1983
- 3) 木下祝郎, 坂本幸哉編, *グルタチオン*, 講談社サイ

- イエンティフィク, 東京, 1985
- 4) Reed, D. J. & Beatty, P. W., in *Reviews in Biochemical Toxicology* 2 (Hodgson, E. et al., eds.), p. 213, Elsevier North Holland, New York, 1980
- 5) Frear, D. S. & Swanson, H. R., *Phytochemistry*, **19**, 2123, 1970
- 6) Mozer, T. J. et al., *Biochemistry*, **22**, 1068, 1983
- 7) Kuninori, T. & Matsumoto, H., *Cereal Chem.*, **41**, 252, 1964
- 8) Fahey, R. C. & Newton, G. L., in *Functions of Glutathione* (Larsson, A. et al., eds.), p. 251, Raven Press, New York, 1983
- 9) 中川一夫他, *食品衛生学雑誌*, **27**, 425, 1986
- 10) 萩原 博, *代謝*, **15**, 1227, 1978
- 11) Newey, H. & Smyth, D. H., *J. Physiol.*, **145**, 48, 1959
- 12) Newey, H. & Smyth, D. H., *J. Physiol.*, **164**, 527, 1962
- 13) Matthews, D. M., *Physiol. Rev.*, **55**, 537, 1975
- 14) Ganapathy, V. & Leibach, F. H., *Am. J. Physiol.*, **249**, G153, 1985
- 15) Ugolev, A. M. et al., *Nature*, **202**, 807, 1964
- 16) Linder, M. et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **123**, 929, 1984
- 17) Hunjan, M. K. & Evered, D. F., *Biochim. Biophys. Acta*, **815**, 184, 1985
- 18) Hagen, T. M. & Jones, D. P., *Am. J. Physiol.*, **252**, G607, 1987
- 19) 井上正康, *グルタチオン*(木下祝郎, 坂本幸哉編), p. 43, 講談社サイエンティフィク, 東京, 1985
- 20) Lash, L. H. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **83**, 4641, 1986
- 21) 稲葉 博, *食品衛生研究*, **38**, 9, 1988
- 22) 山口迪夫, *食料・栄養・健康*, **8**, 88, 1988
- 23) 新村壽夫, *食品添加物の生化学と安全性*, p. 41, 地人書館, 東京, 1979
- 24) Pelkonen, K. & Hanninen, O., in *Gastrointestinal Toxicology* (Rozman, K. & Hanninen, O., eds.), p. 193, Elsevier, Amsterdam, 1986
- 25) Owens, R. A. & Hartman, P. E., *Environ. Mutagen.*, **8**, 659, 1986